

**CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE
CITRUMELO 'SWINGLE' COLHIDAS EM
DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO E
SUBMETIDAS A TRATAMENTOS FUNGICIDAS**

TANISMARE TATIANA DE ALMEIDA SILVA

2007

TANISMARE TATIANA DE ALMEIDA SILVA

**CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE CITRUMELO ‘SWINGLE’
COLHIDAS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO E
SUBMETIDAS A TRATAMENTOS FUNGICIDAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Silva, Tanismare Tatiana de Almeida

Conservação de sementes de citrumelo 'Swingle' colhidas em diferentes estádios de maturação e submetidas a tratamentos fungicidas / Tanismare Tatiana de Almeida Silva -- Lavras : UFLA, 2007.

55 p. : il.

Orientador: Renato Mendes Guimarães.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Citrumelo 'Swingle'. 2. Semente. 3. Armazenamento. 4. Tratamento químico. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.3

TANISMARE TATIANA DE ALMEIDA SILVA

**CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE CITRUMELO ‘SWINGLE’
COLHIDAS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO E
SUBMETIDAS A TRATAMENTOS FUNGICIDAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 1º de março de 2007

Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho	UFLA
Dra. Luciana Magda de Oliveira	PRODOC/CAPES
Prof. Dr. João Almir de Oliveira	UFLA
Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho	UFLA

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

“A reunião de todas as nossas ansiedades não poderá alterar nosso destino; somente nosso empenho, determinação e vontade no momento presente é que poderá transformá-lo para melhor.”

Francisco do Espírito Santo Neto (HAMMED)

À família
razão da minha vida,

OFEREÇO

À vida, presente de Deus,
Aos meus pais, Vicente (*in memoriam*) e Aimar (*in memoriam*),
meu alicerce,
sobre o qual pude construir, crescer e encontrar o caminho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade oferecida.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

À empresa Cutrale e ao Antônio Ricardo, pela doação dos produtos utilizados nos experimentos.

Aos meus amados e admirados professores, Dr. Renato Mendes Guimarães, Dr. João Almir Oliveira, Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho, Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho e Dr. José da Cruz Machado, pela amizade, ensinamentos de vida, caráter e dedicação e por todas as sugestões preciosas durante a execução deste trabalho.

Às funcionárias e amigas do Laboratório de Análise de Sementes, Elza, Dalva, Elenir e Andréa, que engrandecem esse setor com amizade, companheirismo e dedicação.

A todos os meus colegas, principalmente a Luciana Souza, com quem tive a honra de conviver durante esse tempo, que me ajudaram na condução dos experimentos e mesmo aqueles que contribuíram com um sorriso amável a cada dia.

Ao meu irmão, Carlos Eduardo, que tanta motivação trouxe a minha vida.

As minhas tias Ivanilda e Liamar, pela ajuda e dedicação.

Ao meu amado companheiro, Marco Aurélio, pela paciência e alegria.

A minha filha, Maria Luiza, que tantos ensinamentos trouxe à minha existência.

Aos meus pais, Vicente e Aimar, mesmo distantes, seus ensinamentos e amor se fazem tão presente.

A minha querida sogra, Áurea, pelos conselhos.

E ao Senhor meu Deus que me proporcionou e tornou possível esse momento de tanta alegria.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Origem dos citros.....	3
2.2 Porta-enxertos de citros no Brasil.....	4
2.3 Sementes de citros.....	5
2.4 Maturação de frutos e sementes.....	7
2.5 Tolerância à dessecação em sementes.....	9
2.6 Armazenamento e deterioração de sementes.....	11
2.7 Tratamento químico de sementes.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 Tratamento térmico.....	20
3.2 Tratamento químico.....	20
3.3 Determinação do grau de umidade.....	20
3.4 Extração dos tegumentos.....	21
3.5 Teste de germinação.....	21
3.6 Teste de emergência de plântulas.....	21
3.7 Teste de sanidade.....	22
3.8 Avaliações moleculares.....	22
3.8.1 Preparo do material para análise eletroforética.....	22
3.8.2 Extração e análise de enzimas.....	23
3.9 Procedimentos estatísticos.....	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1 Grau de umidade das sementes.....	24
4.2 Sanidade de sementes.....	25
4.3 Avaliação fisiológica e molecular.....	29
5 CONCLUSÕES.....	43
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
7 ANEXOS.....	54

RESUMO

SILVA, Tanismare Tatiana de Almeida. **Conservação de sementes de citrumelo ‘Swingle’ colhidas em diferentes estádios de maturação e submetidas a tratamentos fungicidas.** 2007. 55 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

A formação dos pomares é, na sua totalidade, realizada com porta-enxertos, os quais são provenientes de lotes de sementes com desempenho germinativo irregular, devido à desuniformidade de maturação natural dos frutos. No entanto a germinação lenta e desuniforme das sementes prejudica o estande final e aumenta o tempo necessário para a formação de mudas. Em adição a isso, a alta incidência de fungos e o caráter recalcitrante das sementes de algumas cultivares utilizadas como porta enxerto dificulta o armazenamento em condições de baixa temperatura ou por períodos mais longos. Em face do exposto objetivou-se com esse trabalho, avaliar formas de armazenagem e tratamento fungicida durante o armazenamento de sementes de citrumelo ‘Swingle’, extraídas de frutos em dois estádios de maturação. Os frutos foram colhidos em dois estádios (verde e maduro) e as sementes extraídas, após receberem tratamento térmico, foram tratadas com Derosal, Thiram e Tecto+Captan e embaladas em sacos de polietileno impermeáveis e armazenadas em câmara fria, durante 9 meses. Em intervalos trimestrais, a qualidade fisiológica e a sanitária foram avaliadas por meio dos testes de germinação, emergência de plântulas, sanidade e pelos perfis enzimáticos. As sementes de citrumelo ‘Swingle’ extraídas de frutos verdes devem ser armazenadas para posterior semeadura e as sementes de frutos maduros devem ser semeadas imediatamente após a colheita; o tratamento com a mistura de Tecto + Captan é eficiente no controle de patógenos durante o armazenamento.

Comitê Orientador: Renato Mendes Guimarães - UFLA (Orientador), Édila Vilela de Resende Von Pinho - UFLA (Co-orientadora), José da Cruz Machado -UFLA (Co-orientador).

ABSTRACT

SILVA, Tanismare Tatiana de Almeida. **Conservation of citrumelo ‘Swingle’ seeds collected at different maturation stages and submitted to fungicides.** 2007. 55 p. Dissertation (Master in Agronomy) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.

The establishment of orchards in, in its wholeness, performed through rootstocks, which are coming from lots of seeds with an irregular germinative performance, due to the non-uniformity of natural maturation of fruits. Nevertheless, germination, both slow and non-uniform, of the seeds compromises the final stand and increases the time necessary for the establishment of seedlings. In addition, the high incidence of fungi and the recalcitrant character of the seeds of some cultivars utilized as rootstocks make the storage under low temperature conditions or for longer periods difficult. Owing to the exposed, it was aimed by means of this work to evaluate storage ways and fungicidal treatment over the storage of citrumelo ‘Swingle’ seeds, extracted from two fruits with two maturation stages. The fruits were collected at two stages (unripe and ripe) and the seeds extracted, after the seeds were given thermal treatment, they were treated with Derosal, Thiram and Tecto+Captan and packed in impermeable polyethylene bags and stored in cold room for 9 months’ time. In three months’ intervals, the physiological and sanitary qualities were evaluated by means of tests of germination, seedling emergence, sanity and enzyme profiles. The citrumelo ‘Swingle’ seeds extracted from unripe fruits should be stored for later sowing and the seeds of ripe fruits should be sown immediately after collection, the treatment with the mixture of Tecto + Captan is efficient in controlling pathogens during storage.

Guidance Committee: Renato Mendes Guimarães - UFLA (Adviser), Édila Vilela de Resende Von Pinho - UFLA (Co-adviser), José da Cruz Machado -UFLA (Co-adviser).

1 INTRODUÇÃO

A citricultura ocupa a quarta maior área cultivada no país e o Brasil possui o maior parque citrícola do mundo, com produção de aproximadamente, de 30% de toda a laranja consumida. É também o principal exportador de suco de laranja concentrado e congelado, seguido dos Estados Unidos (Neves, 2005).

A formação dos pomares é, na sua totalidade, realizada com porta-enxertos e a acentuada incidência de doenças tem alterado o perfil da citricultura, principalmente no que diz respeito à diversidade desses porta-enxertos em relação a sua tolerância às principais doenças que afetam a planta. No contexto atual, a utilização de mudas certificadas e sadias vem se tornando um fator obrigatório, devido à incidência de patógenos nos pomares, os quais afetam o seu rendimento e aumentam os custos de produção da laranja.

O uso dessas mudas, além de minimizar o problema de disseminação de doenças, proporciona uma melhor produção de frutos com qualidade, o que minimiza o custo de renovação desses pomares, tornando-os mais longevos.

Atualmente, um dos porta-enxertos mais utilizados pelos produtores de mudas é o citrumelo ‘Swingle’ ou CPB 4475, que é um híbrido de *Citrus paradisi* Macfad. cv. Duncan x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. Este foi desenvolvido pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, em 1907 e introduzido no estado de São Paulo, em 1948, pelo Instituto Agrônomo de Campinas. Esse porta-enxerto é resistente às principais doenças que afetam a citricultura atualmente. É resistente à gomose de *Phytophthora* e ao nematóide dos citros, além de ser tolerante à tristeza dos citros, à exocorte, à xiloporose e ao declínio.

O híbrido citrumelo ‘Swingle’ é utilizado como porta-enxerto em 21% de todas as plantas cítricas do país. Um aumento de 260% foi observado no plantio de mudas com esse porta-enxerto, entre 2002 e 2003. Trata-se de um

crescimento muito expressivo, principalmente se comparado com o crescimento de 13% de mudas com limão cravo.

Um problema enfrentado na formação das mudas desse híbrido é a germinação lenta e desuniforme das sementes, além da dificuldade de conservação dessas sementes por períodos mais longos de armazenamento.

Para a produção de mudas, implantação de novos pomares, manutenção e recuperação daqueles já implantados, torna-se necessária a semeadura para a formação de porta-enxertos ao longo de todo o ano. Entretanto para que a semeadura seja viabilizada, as sementes devem ser armazenadas, pelo menos por período correspondente ao tempo entre duas colheitas sucessivas. No entanto, uma dificuldade para a obtenção e conservação das sementes de porta-enxerto com alta qualidade é a diferença de maturação encontrada nos frutos na época da colheita, fato que acarreta desuniformidade no vigor das sementes e conseqüentemente na formação das mudas.

A colheita dos frutos é realizada no período de fevereiro a maio e é avaliada de maneira subjetiva, quando os frutos apresentam a casca e a polpa amarelada com as sementes em tons amarelo-creme.

As sementes de 'Trifoliata' e de seus híbridos são sensíveis ao armazenamento sendo consideradas recalcitrantes. Geralmente são armazenados com 35% de grau de umidade o que propicia consideravelmente a proliferação de fungos e a rápida deterioração com drástica redução da qualidade fisiológica. Dessa maneira, o tratamento das sementes com fungicidas sistêmicos e protetores se faz necessário para manter a qualidade das mesmas.

Outro aspecto que dificulta a germinação de sementes de citros é a presença do tegumento, que em conseqüência da impermeabilidade do tegma, também prolonga o tempo de germinação, sendo conveniente, portanto retirar esse tegumento antes da semeadura, para reduzir o tempo gasto à germinação da semente e conseqüentemente de produção das mudas.

Mesmo diante da importância do uso de porta-enxertos na citricultura e da diversidade do gênero *Citrus*, a literatura ainda é bastante limitada quando se refere ao estudo da semente, denotando a carência de pesquisas nessa área.

Em face do exposto, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a armazenabilidade e o tratamento fungicida de sementes de citrumelo ‘Swingle’, extraídas de frutos em dois estádios de desenvolvimento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Origem dos citros

Uma das mais conhecidas árvores frutíferas, a laranjeira é nativa da Ásia, mas, a região exata de sua origem ainda é motivo de controvérsia. Alguns historiadores afirmam que os cítricos teriam surgido no leste asiático, nas regiões que incluem Índia, China, Butão, Birmânia e Malásia, e foram levados para o norte do continente Africano e, de lá, para o sul da Europa e, depois, para as Américas, por volta de 1500. A laranja espalhou-se pelo mundo sofrendo mutações, dando origem a novas variedades (Abecitrus, 2006).

As plantas cítricas foram introduzidas no Brasil pelos portugueses. Aqui encontraram condições favoráveis para o seu desenvolvimento e, depois de alguns séculos, o país tornou-se o mais importante produtor mundial de frutas cítricas (Agrianual, 1999).

Os cítricos pertencem à família Rutaceae, subfamília Aurantioideae, na qual existem duas tribos, seis subtribos e 33 gêneros (Swingle & Reece, 1967), destacando-se os gêneros *Fortunella*, *Eremocitrus*, *Clymenia*, *Poncirus*, *Microcitrus* e *Citrus*, sendo os mais importantes economicamente *Fortunella*, *Poncirus* e *Citrus* (Chapot, 1975).

2.2 Porta-enxertos de citros no Brasil

No Brasil, como na citricultura mundial, as plantas eram propagadas por sementes e essa predominância ocorreu até o aparecimento de problemas relacionados ao ataque de *Phytophthora* sp., na ilha dos Açores (Portugal), na metade do século XIX (Pompeu Júnior, 1991).

Com o avanço da indústria cítrica, no início do século XIX começaram a ser instalados pomares com árvores enxertadas. O processo de enxertia, geralmente, une dois materiais vegetais geneticamente distintos que passam a compartilhar uma série de fatores essenciais à sobrevivência de ambos.

Em 1937, o aparecimento do vírus da tristeza dos citros (CTV) e a sua rápida disseminação, nos pomares, pelo pulgão-preto (*Toxoptera citricidus* Kirk.) causaram a morte de muitas plantas com porta-enxertos de laranja ‘Azeda’ e lima da ‘Pérsia’. Entretanto, pesquisas desenvolvidas no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), juntamente com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), proporcionaram a renovação da citricultura brasileira com os porta-enxertos do limão ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osbeck), tangerina ‘Cleópatra’ (*Citrus reshni* Hort. Ex Tanaka), limão ‘Rugoso’ (*Citrus jambhiri* Lush.) e citrange ‘Troyer’ (*Poncirus trifoliata* L. Rafinesque x *Citrus sinensis* L. Osbeck) (Chapot, 1975; Pompeu Júnior 1991, 2001).

Nos anos 1960, o porta-enxerto mais utilizado foi o limão ‘Cravo’, por ser tolerante ao vírus da tristeza e à seca. Na década de 1970, o declínio dos citros tornou-se um problema sério nos pomares, pelo fato de ser o limão ‘Cravo’ suscetível a essa doença (Grosser & Gmitter Junior, 1990). A sua intolerância ao declínio dos citros provocou uma diversificação de porta-enxertos na citricultura. A tangerina ‘Cleópatra’, o limão ‘Volkameriano’ (*Citrus volkameriana* Tan. e Pasq.), a tangerina ‘Sunky’ (*Citrus sunky* Hort.) e, no início dos anos 1990, o citrumelo ‘Swingle’ (*Citrus paradisi* Macfad. cv. Duncan x

Poncirus trifoliata (L.) Raf.) se mostraram boas alternativas para essa diversificação (Pompeu Júnior, 2001).

A escolha de um porta-enxerto adequado pode propiciar frutos de melhor qualidade, que atendam às exigências internacionais para a exportação de frutas frescas, propiciar frutos de tamanho maior ou em épocas em que, geralmente, os preços no mercado interno são melhores e, finalmente, pode ainda colaborar com as indústrias processadoras de suco, com frutos com maiores teores de suco e sólidos solúveis totais.

O híbrido citrumelo ‘Swingle’ cuja denominação inicial era CPB 4475, obtido na Flórida no ano de 1907, pelo cientista W. T. Swingle, não apresentou qualquer qualidade do fruto para o consumo humano e, a partir dos anos 1940 começou a ser testado como porta-enxerto pelos pesquisadores (Abecitrus, 2006).

Nos últimos anos, no Brasil tornou-se um porta-enxerto de uso intensivo por apresentar tolerância a doenças, como tristeza, exocorte, xiloporose e também gomose. Pode apresentar incompatibilidade com algumas copas, mas os frutos das copas nele enxertadas, quando compatíveis, são de ótima qualidade.

As cultivares enxertadas em citrumelo ‘Swingle’ produzem frutos de qualidade superior àqueles obtidos sobre os limões ‘Cravo’ e ‘Volkameriano’ (Junior, 2005). A propagação do citrumelo ‘Swingle’ é feita por sementes e sua germinação, ao longo do tempo, garante o estabelecimento de porta-enxerto para a formação das mudas para a implantação e para o replantio dos laranjais.

2.3 Sementes de citros

Os porta-enxertos cítricos, em sua grande maioria, são propagados por sementes, mas, devido ao longo período de germinação, que varia de 15 até 60 dias ou mais, a depender da espécie, as plântulas no viveiro possuem variação no

seu tamanho (Fucik, 1978). Esta variação no tamanho da planta é indesejável, porque dificulta as operações de enxertia e conseqüentemente aumentam os custos de produção. Comercialmente, variações entre tamanho de plântulas são usualmente, reduzidas com transplante para a bandeja, havendo um descarte de até 50% das plântulas (Chilembwe et al., 1992).

A semente cítrica possui elevado conteúdo lipídico sendo sensível à secagem excessiva. Morfologicamente, possui duas camadas protetoras, a mais externa, denominada testa, é rígida e lenhosa, de coloração branco-creme. A camada mais interna denominada tegma, constitui-se de uma fina membrana, cuja formação é originária, essencialmente, do integumento intermediário do óvulo e também contém tecidos remanescentes do nucelo. A cor varia de vermelho-púrpura ao marrom (Queiroz et al., 2005).

Das nove espécies cultivadas do gênero *Citrus*, sete são poliembriônicas e apresentam apomixia facultativa, ou seja, as sementes possuem tanto embriões zigóticos ou sexuais diferentes da planta mãe, como os apomíticos ou nucelares, idênticos à planta mãe (Chapot, 1975; Queiroz et al., 2005). Essa poliembrionia é um fenômeno comum em muitas espécies cítricas, sendo a maioria desses embriões de origem nucelar (apogâmicos).

O número de embriões contidos em uma semente é influenciado também pela cultivar, pelo estado nutritivo do fruto, pelos fatores ambientais e pelo clone polinizador (Soares Filho et al., 1995). Nos programas de melhoramento genético de citros, tem-se a poliembrionia como um obstáculo à criação intencional de novas variedades (Soares Filho et al., 2000).

A germinação das sementes é do tipo hipógea (SpiegelRoy & Goldschmidt, 1996) e lenta, podendo chegar a 60 dias para a estabilização do estande em viveiro.

Para se alcançar uma germinação rápida e uniforme das sementes, vários tratamentos têm sido utilizados, sendo a técnica de remoção do tegumento a

mais promissora (Cohen, 1956; Monselise, 1962). Contudo, essa técnica usada por empresas produtoras de mudas é muito onerosa.

Além de as sementes de citros germinarem lentamente e da necessidade de extração dos tegumentos, a maioria das sementes de espécies cítricas é considerada recalcitrante. Não se sabe se a recalcitrância está condicionada a maturação dos frutos determinada por suas características e à coloração da casca como em sementes de café. Contudo, existem dificuldades na determinação do momento adequado da colheita dos frutos de citros que garantam a maturidade e a germinação das sementes.

2.4 Maturação de frutos e sementes

O momento da coleta pode ser constatado acompanhando-se o desenvolvimento do fruto e ou semente por meio de características físicas e fisiológicas (Carvalho & Nakagawa, 2000). Para tanto, um acompanhamento visual das características externas do fruto permite aos produtores de sementes e mudas a determinação mais rápida do ponto de colheita, principalmente porque, na maioria dos casos, ocorre variação fisiológica das sementes, de acordo com a maturação dos frutos.

Os frutos de citros não apresentam um ponto definido de maturação. A coloração da casca e a maturação interna dos frutos cítricos parecem ser controladas por diferentes mecanismos, pois é comum, em região de clima tropical, o fruto encontrar-se internamente adequado para o consumo e, externamente, apresentar a casca verde (Rena et al., 2005).

A mudança de coloração da casca dos frutos deve-se à degradação das clorofilas e à síntese de carotenóides, responsáveis pela coloração amarela ou laranja dos frutos. É fortemente influenciada por fatores ambientais, como temperatura, umidade, luminosidade, solo, porta-enxerto e endógenos, como

giberelinas, compostos nitrogenados e carboidratos (Rena et al., 2005). O conhecimento do processo de maturação dos frutos, como um indicador do ponto de colheita, é de fundamental importância para a obtenção de sementes de alta qualidade fisiológica.

Harrington (1959) verificou que o estágio de maturação do fruto de melão teve influência na germinação de suas sementes. Pesquisas com sementes de cafeeiro têm indicado que a máxima capacidade germinativa ocorre quando os frutos atingem os estádios verde-cana e cereja e que sementes completamente maduras podem não ter o máximo vigor devido à provável iniciação do processo de germinação já no final da maturação (Farrant et al., 1988)

Em frutos de pepino, Barbedo et al. (1997) estudaram a maturação de sementes e observaram muitos resultados heterogêneos quando se modificam, dentro da mesma cultivar, a época de produção, a região produtora e os tratamentos culturais, entre outros fatores, ressaltando que o aproveitamento destes estudos para fins de recomendação de colheita, além de muito difícil, seria até mesmo imprudente. A cada nova cultivar, época ou região de produção, a cada modificação na nutrição da planta ou em outros tratamentos culturais, outros momentos cronológicos no ponto de maturidade fisiológica das sementes podem ser observados.

Verifica-se, nesses frutos carnosos, uma correlação entre as fases de desenvolvimento das sementes e os aspectos externos do fruto, considerando ser um forte indicativo do momento ideal de colheita (Barbedo et al., 1997). Esses mesmos autores observaram que a porcentagem de germinação de sementes de pepino aumentou desde as primeiras fases de coletas estudadas, com uma ligeira diminuição no final. O armazenamento do fruto propiciou a germinação das sementes extraídas de frutos novos, enquanto que, sem o referido armazenamento, a germinação não ocorreu. Também em frutos verdes de

pimentão, Mantovani et al. (1980) observaram uma porcentagem alta de germinação.

Pescador et al. (1992) observaram que sementes de *Citrus* mantiveram uma germinação de 100% quando extraídas de frutos aos 194 e aos 258 dias após a antese. Foi avaliada também a porcentagem de germinação dos embriões e em sementes de ‘Toranjeira’, esse valor foi mantido em 100%. O mesmo não ocorreu com o tangor ‘Murcote’, que teve a germinação reduzida de 79,8% para 67,8%.

Para Pasqual & Pinto (1998), os embriões imaturos podem germinar precocemente, não passando pelos estádios normais da embriogênese, originando plântulas fracas e mal formadas. A germinação precoce é caracterizada por um período de rápidas divisões celulares, não acompanhadas por alongamento celular.

Na literatura, são escassas informações a respeito da maturação de sementes de citros, principalmente porta-enxertos. O citrumelo ‘Swingle’, além de ter variações na maturação das sementes, tem variações quanto à tolerância à dessecação, sendo classificadas de intermediárias a recalcitrantes (King & Roberts, 1979).

2.5 Tolerância à dessecação em sementes

Em várias espécies vegetais de importância econômica, as sementes podem ter seu grau de umidade reduzido, mantendo a viabilidade e o vigor durante longos períodos de armazenamento a baixas temperaturas. Essas sementes são denominadas ortodoxas e toleram a dessecação pós-colheita a graus de umidade em torno de 4%. Em contraste, existem espécies de sementes chamadas de recalcitrantes que, além de não tolerarem baixas temperaturas, não podem sofrer secagem durante e após seu desenvolvimento e maturação. O grau

de umidade deve ser alto durante todo o seu desenvolvimento, até a germinação, o que dificulta a sua conservação por períodos prolongados. Essas sementes não toleram dessecação a graus de umidade entre 12% e 20% (Hong & Ellis, 1996; Roberts, 1973).

Existem algumas espécies, cujo comportamento não se enquadram nessa divisão, para tanto foi sugerida, na década de 1990 uma terceira categoria, denominada de intermediária, que compreende sementes que podem resistir à desidratação até certo nível, mas têm sua armazenabilidade reduzida. As sementes dessa categoria toleram a dessecação a graus de umidade em torno de 10% a 13%, reduzindo sua viabilidade a valores inferiores (Hong & Ellis, 1995). Outra classificação para sementes recalcitrantes em função da variabilidade na sensibilidade à dessecação tem sido sugerida, dividindo-as em “altamente”, “moderadamente” e “minimamente” recalcitrantes (Farrant et al., 1988). As sementes classificadas como minimamente recalcitrante têm maior tolerância à perda de água, germinação lenta em ausência de quantidade adicional de água e maior tolerância a baixas temperaturas. Já as sementes moderadamente recalcitrantes têm a maioria das espécies com distribuição tropical, são sensíveis a baixas temperaturas, média tolerância à desidratação e velocidade média de germinação em ausência de água adicional. Em comparação às sementes altamente recalcitrantes, que são pouco tolerantes à dessecação, têm uma rápida germinação e são sensíveis a baixas temperaturas, sendo essa categoria presente em floresta tropical e terra úmida (Farrant et al., 1988).

Sementes recalcitrantes são dispersas com conteúdos de água relativamente altos, permanecem metabolicamente ativas durante o desenvolvimento e continuam a acumular matéria seca. São sensíveis à dessecação antes e depois de serem formadas e têm uma longevidade pós-colheita muito limitada, mesmo em condições de hidratação (Berjak et al., 1997).

A sensibilidade à dessecação está diretamente associada com sua persistência no estágio de atividade metabólica. Uma característica adicional de espécie recalcitrante é que todas, mais cedo ou mais tarde morrerão sob condições de armazenamento, por não sobreviverem à perda de água. (Berjak, et al., 1989).

Essas sementes, quando são colhidas e a seguir desidratadas, têm sua viabilidade reduzida à medida que a umidade é perdida, no princípio vagarosamente, aumentando consideravelmente a partir de um determinado conteúdo de umidade, denominado crítico.

Alguns problemas que ocorrem quando se trabalha com sementes recalcitrantes é a variação entre diferentes colheitas da mesma espécie e mesmo de semente para semente (Berjak et al., 1989) e a dificuldade no armazenamento das mesmas.

Nas espécies recalcitrantes, é muito difícil manter a qualidade das sementes durante o armazenamento, pois elas são muito variáveis em umidade, tamanho e viabilidade. Além disso, falta compreensão sobre mecanismos básicos de comportamento desse grupo de sementes (Basra, 1995).

2.6 Armazenamento e deterioração de sementes

O armazenamento inclui vários procedimentos voltados à preservação da qualidade das sementes, no intuito de proporcionar um ambiente no qual mudanças fisiológicas e bioquímicas sejam mantidas em um nível aceitável. Mas, mesmo assim, uma das principais dificuldades, mesmo em períodos curtos, é a condição de alta umidade relativa necessária para prolongar a vida de armazenamento das sementes recalcitrantes, pois também são favoráveis à proliferação de microrganismos (Berjak, 1996).

Segundo Delouche & Baskin (1973), a deterioração de sementes pode ser caracterizada como um processo inevitável, sendo, no entanto, possível retardar a taxa de deterioração por meio de práticas que conduzam a um ótimo armazenamento.

Vale ressaltar que o processo de deterioração ocorre mesmo em condições artificialmente adequadas e que a qualidade das sementes não melhora durante o armazenamento, sendo fundamental a qualidade inicial do lote (Carvalho & Nakagawa, 2000).

O nível de deterioração das sementes durante o armazenamento varia em função da temperatura, da umidade relativa, do grau de umidade das sementes e do tipo de embalagem utilizada. Dessa forma, têm sido desenvolvidas técnicas de armazenagem para sementes recalcitrantes, as quais podem ser agrupadas em quatro tipos principais: armazenagem úmida ou embebida, técnicas de dessecação parcial, armazenagem em atmosfera controlada e armazenagem criogênica. Salienta-se, ainda, que a conservação das sementes pós-colheita é influenciada também pela presença de microrganismos (Macedo et al., 1998) principalmente quando armazenadas em embalagens impermeáveis.

Esse tipo de embalagem impede a troca de umidade com o ar externo, podendo aumentar a umidade relativa de equilíbrio no interior da massa, se houver uma rápida queda na temperatura. A condensação pode ocorrer na superfície do produto e este absorver umidade. O alto grau de umidade contribui para a elevação da atividade metabólica das sementes e, conseqüentemente, para o aumento de sua taxa respiratória, resultando numa maior liberação de CO₂ e de vapor de água no interior da embalagem (Bonome, 2006).

Mesmo quando o grau de umidade for mantido em nível adequado durante o armazenamento, sua longevidade é curta, variando de acordo com a espécie, podendo ser de algumas semanas até alguns meses (King & Roberts, 1979).

A longevidade corresponde ao período em que a semente se mantém viva, sendo capaz de germinar quando colocada em condições favoráveis (Toledo & Marcos Filho, 1997). A curta longevidade das sementes recalcitrantes restringe o período de sua utilização, sendo necessária semeadura imediatamente após seu desprendimento da planta mãe.

Quando as sementes são armazenadas, o processo respiratório deve ser mantido a um nível tão baixo quanto possível, para que haja uma melhor conservação, sendo impossível em sementes recalcitrantes, uma vez que estas não toleram dessecação. A respiração é um processo que continua, mesmo após as sementes terem sido colhidas.

Nas sementes úmidas, a respiração favorece o aparecimento de microrganismos e a deterioração durante o armazenamento, o que provoca uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e físicas que influenciam na qualidade das sementes e, eventualmente, causam a morte das mesmas.

A qualidade fisiológica é adquirida durante os processos de desenvolvimento e pode ser perdida por processos deteriorativos, que podem iniciar ainda nessa fase. Quando as sementes se deterioram, elas perdem vigor progressivamente, apresentando redução na velocidade e na uniformidade de emergência, menor resistência a condições adversas, decréscimo na proporção de plântulas normais e, finalmente, perdem a viabilidade ou a capacidade de germinar (Halmer & Bewley, 1984).

Dentre as principais alterações envolvidas na deterioração, destacam-se o esgotamento das reservas; a alteração da composição química, como a oxidação dos lipídios, das enzimas envolvidas na deterioração de sementes e a quebra parcial das proteínas; a alteração nas membranas celulares, com redução da integridade, aumento da permeabilidade e desorganização das membranas celulares. Embora a deterioração progrida com a elevação do grau de umidade

das sementes, os mecanismos celulares funcionais de reparo são mantidos pelo metabolismo durante a respiração aeróbica (Ibrahim & Roberts, 1983).

A perda da viabilidade das sementes no processo de deterioração é precedida por redução na capacidade de sintetizar proteínas, devido ao declínio de componentes como ribossomos, RNA mensageiro e alterações na transcrição e na tradução, com o envelhecimento das sementes (Vieira, 2002) e à degradação de macromoléculas, tais como: proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e, conseqüentemente, à diminuição de atividades bioquímicas de sementes (Coolbear, 1995).

Com o envelhecimento das sementes, as membranas se tornam fracas, as enzimas perdem a atividade catalítica e os cromossomos acumulam mutações. Muitas mudanças bioquímicas ocorrem nas sementes que estão deteriorando, sendo difícil discriminar entre os eventos primários e secundários.

O mecanismo de degradação de membranas e macromoléculas durante o envelhecimento tem sido objeto de pesquisas nas últimas décadas. Uma variedade de oxidações enzimáticas e espontâneas pode ocorrer para gerar radicais livres, que podem causar a destruição de grandes polímeros, incluindo os lipídios de membranas. Os radicais livres são grupo de átomos com um elétron não pareado, o que os tornam altamente reativos e instáveis. Os mais importantes nesse contexto são os radicais hidroxila (OH^\cdot), superóxido (O_2^\cdot) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Uma vez presente na célula, esses radicais livres podem iniciar reações oxidativas em cadeia, altamente danosas, especialmente com ácidos graxos polinsaturados, formando hidroperóxidos de lipídios (Coolbear, 1995; Desai et al., 1997). Pesquisadores têm demonstrado que proteínas podem ser bons marcadores do estágio de deterioração em sementes, por meio das variações eletroforéticas.

As superóxidos dismutase (SOD) são um grupo de enzimas encontradas no citoplasma celular e na matriz mitocondrial. Elas catalizam a reação de

dismutação de radicais superóxidos livres (O_2^-) produzidos em diferentes locais na célula, para oxigênio molecular (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Scandális, 1993). De acordo com Halliwell & Gutteridge (1989), a SOD exerce um importante papel em proteger a célula contra os efeitos deletérios de radicais superóxidos livres, sendo considerada chave na regulação de concentrações intracelulares de radicais superóxidos e peróxidos.

O principal papel da SOD é transformar o superóxido em peróxido de hidrogênio cujo composto é muito menos reativo. Porém, o acúmulo de peróxido na célula também é tóxico a ela, podendo levá-la à morte, principalmente na presença de ferro (Eaton, 1991)

Para reduzir o efeito fitotóxico do peróxido de hidrogênio na célula, as enzimas catalase e peroxidase começam a atuar. A catalase é uma enzima capaz de realizar a desintoxicação de (O_2^-) e H_2O_2 . Ela está presente nos peroxissomas das células, decompondo o peróxido de hidrogênio em oxigênio molecular e água, sem a produção de radicais livres. Em outros compartimentos, como no citosol e na matriz mitocondrial, o peróxido de hidrogênio é removido pelas peroxidases (McDonald, 1999).

Existem estudos que demonstram a correlação entre a perda da viabilidade das sementes e a queda na atividade dessa enzima. Nesse sentido, a enzima esterase está envolvida em reações de hidrólise de ésteres. Este grupo de enzimas hidrolíticas libera ácido graxo dos lipídios, os quais são usados na β -oxidação, como fonte de energia para os eventos germinativos. Enquanto muitos desses lipídios são provenientes de lipossomos, alguns são constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração. Santos et al. (2005) observaram aumento na atividade de esterase durante o armazenamento de sementes de feijão, sendo o aumento mais expressivo na cultivar de menor qualidade fisiológica.

Aung & McDonald (1995), ao avaliarem a atividade da esterase durante a deterioração de sementes de amendoim, observaram um decréscimo na sua atividade total, com o aumento de deterioração, tanto em sementes embebidas como não embebidas. A glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) participa da reação específica de transferência do grupo amino de um aminoácido ao ácido α -cetoglutarato para formar o ácido glutâmico e produzir o cetoácido. Essas reações ocorrem, sobretudo no citoplasma e o ácido glutâmico, ao qual a membrana mitocondrial é permeável, entra na matriz, onde pode ser novamente transaminado ou ser desaminado pela glutamato desidrogenase, sendo essa uma enzima atuante no processo de degradação e síntese de proteínas (Conn & Stumpf, 1980).

A enzima malato desidrogenase (MDH) apresenta importantes funções fisiológicas dentro da célula, como enzima do ciclo de Krebs, além de atuar como papel central na maioria das rotas bioquímicas da célula. A enzima MDH exibe poucas mudanças qualitativas durante o curso de desenvolvimento de um organismo. Essas enzimas são encontradas em associação a uma grande quantidade de organelas subcelulares apresentando diferenças na regulação da atividade em vários sítios (Scandalios, 1974). Por se tratar de uma enzima importante na respiração, o aumento do número e ou da intensidade de coloração de bandas em sementes submetidas a períodos longos de armazenamento pode ser em função do aumento da respiração que ocorre em sementes que se encontram em processo de deterioração avançado, uma vez que enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de qualidade reduzida (Shatters et al., 1994).

Para minimizar os processos de deterioração nas sementes e reduzir a proliferação de microrganismos durante o armazenamento, o uso adequado do tratamento químico se torna necessário, viabilizando o uso dessas sementes.

2.7 Tratamento químico de sementes

Quando as sementes são colocadas em embalagens impermeáveis, com grau de umidade acima 20%, a taxa respiratória associada com pouca ventilação pode promover o aquecimento da massa de sementes. Isso ocorre porque o processo de respiração faz com que a massa perca energia na forma de calor e, conseqüentemente, ocorra rápida deterioração das mesmas. O aquecimento pode ocorrer em regiões específicas da massa de sementes, formando manchas mais sujeitas ao ataque de microrganismos.

O efeito dessa série de infecções, segundo Marcos Filho (2005), é a elevação do grau de umidade das sementes e da temperatura, como resultado dos fungos presentes, destacando-se a atividade de *Aspergillus glaucus* que pode promover o início do umedecimento das sementes.

Bilia et al. (1999) armazenaram sementes de *Inga uruguensis* com umidade próximo a 50% e observaram que houve atividade metabólica e acréscimo da proliferação de *Aspergillus* spp. e de *Penicillium* sp., promovendo alterações no microambiente, identificadas pela elevação do grau de umidade das sementes.

Uma alternativa para diminuir a incidência de microrganismos é a utilização de baixas temperaturas durante o armazenamento. No entanto, esse procedimento pode afetar negativamente a viabilidade da maioria das sementes recalcitrantes de espécies tropicais (Probert & Smith, 1996). Outra opção tem sido a aplicação de fungicidas, o que tem proporcionado resultados satisfatórios em sementes recalcitrantes de algumas espécies, como tangerina ‘Cleópatra’ e limão ‘Cravo’ (Bonome & Von Pinho, 1999) e cacau (Figueiredo, 1986). Por outro lado, sementes de outras espécies podem apresentar maior sensibilidade à fitotoxicidade de fungicidas, como observado em sementes de citrumelo ‘Swingle’ por Bonome & Von Pinho (1999), sementes de seringueira tratadas

com Benlate e Thiram (Garcia & Vieira, 1994), Benlate e Captan (Cícero et al., 1986).

O efeito dos microrganismos em sementes, no aspecto bioquímico e molecular, é pouco elucidado. No entanto, existem fungos capazes de invadir as sementes durante seu desenvolvimento ou após a maturação. Quando a infecção é acentuada chega a injuriar a semente, podendo causar descoloração, enrugamento e redução na qualidade fisiológica, bem como alterações nos perfis eletroforéticos de proteínas e isoenzimas.

De acordo com Agrios (1998), a maioria dos patógenos vive em associação ou dentro de protoplastos celulares. Esses patógenos absorvem nutrientes do protoplasto, como açúcares e aminoácidos, que são moléculas pequenas. Outros constituintes celulares, como proteínas e ácidos graxos, podem ser utilizados apenas após a degradação, por enzimas secretadas pelo patógeno.

O tratamento de sementes envolve a aplicação de diversos processos e substâncias com o objetivo de preservar ou aperfeiçoar seu desempenho, possibilitando um aumento de produtividade da cultura (Menten, 1991). De maneira geral, pode ser definido como qualquer operação que envolva as sementes, seja por meio de seu manejo ou pela incorporação de produtos químicos ou biológicos, à sua superfície ou interior, ou aplicação de agentes físicos, visando à melhoria ou garantia do seu desempenho em condições de cultivo (Machado, 2000).

O uso de fungicidas para tratamento químico de sementes é um dos métodos de mais baixo custo no controle integrado de doenças de plantas, não só com o interesse de eliminar os patógenos associados às sementes, mas também proteger as sementes e as plântulas, durante sua fase inicial de desenvolvimento, de agentes patogênicos presentes na semente e no solo (Ruano et al., 1989; Goulart, 2000).

Machado (2000) relata que a completa erradicação ou redução, a níveis toleráveis, de um patógeno associado às sementes, nem sempre é possível por meio de um único método. Diversos fatores podem interferir na eficácia de um ou de outro método, fazendo com que o uso combinado desses seja uma tática necessária para o sucesso do tratamento de sementes. Em citros, a combinação do tratamento térmico e o químico tem sido uma necessidade para o tratamento das sementes, sendo o uso de fungicidas protetores, como Thiram e Captan quase sempre indispensável após o tratamento à base de calor.

Dessa forma, o ponto de maturação em que as sementes são colhidas e as condições em que são expostas durante o armazenamento, bem como da utilização do tratamento químico, podem influenciar grandemente na qualidade inicial do lote e, conseqüentemente, na produção das mudas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura na Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. Foram utilizadas sementes do híbrido citrumelo ‘Swingle’ (*Citrus paradisi* Macfad. cv. Duncan x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. safra 2005. As sementes foram produzidas em Limeira, SP, onde foram extraídas mecanicamente do fruto em dois estádios de maturação, verde e maduro. Foram consideradas sementes verdes aquelas provenientes de frutos com coloração verde-escura na casca, com aspecto esbranquiçado na polpa e sementes em tons amarelo-claro (Estádio 1). Como maduras, foram consideradas as sementes de frutos que apresentavam casca amarela, polpa amarelo-creme e sementes com tegumento externo em amarelo-escuro (Estádio 2).

As avaliações da qualidade das sementes foram realizadas em períodos trimestrais, por meio de testes de germinação, índice de velocidade de emergência (IVE), sanidade e perfis isoenzimáticos.

3.1 Tratamento térmico

Após a extração, as sementes foram submetidas a tratamento térmico, a 52°C, durante 10 minutos, realizado pela empresa fornecedora das sementes.

3.2 Tratamento químico

Após o tratamento térmico, as sementes verdes e maduras foram divididas em lotes, que receberam diferentes tratamentos químicos, sendo Captan+Tecto 600 (30g+10g/20L semente), Thiram (2g/kg de semente), Derosal (2g/kg de semente) e uma amostra sem tratamento. Foram armazenados por três, seis e nove meses em câmara fria e seca, a 10°C, em embalagens plástica de polietileno em volume de 4,5 litros e envolvidas em sacos plásticos de cor preta.

3.3 Determinação do grau de umidade

O grau de umidade das sementes foi determinado pelo método da estufa, a 105°C ± 3, durante 24 horas, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), em todos os períodos de armazenamento. Em cada tratamento foi retirada uma amostra para compor a repetição.

3.4 Extração dos tegumentos

Antes da semeadura e após cada período de armazenamento, nos testes de germinação, emergência de plântulas e das análises isoenzimáticas, realizou-se a extração do tegumento. Em um balde, adicionou-se 1 litro de água em 1 litro de sementes e em seguida 0,5 litro de hipoclorito de sódio (NaClO) a 12%, 18 gramas de soda cáustica (NaOH) e 5 ml de ácido muriático (HCl). A mistura foi agitada durante 5 minutos, sem intervalos. Após esse período, as sementes foram deixadas em repouso durante 40 minutos, até apresentarem um aspecto esbranquiçado e com o tegumento soltando-se facilmente. As sementes foram em seguida, lavadas em uma solução de cal na proporção de 200g para 5 litros de água. Após esse processo, o tegumento foi retirado das sementes, manual e individualmente.

3.5 Teste de germinação

O substrato para semeadura foi o papel do tipo germitest, umedecido com água destilada em quantidade de 2,5 vezes o peso seco do papel. As sementes foram colocadas em germinador regulado à temperatura de 25°C e as contagens realizadas aos 15 e 30 dias após a semeadura. Foram consideradas como plântulas normais aquelas que apresentavam o folíolo exposto e presença de raízes primárias com, no mínimo 3 cm. Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes e os resultados foram expressos em porcentagem.

3.6 Teste de emergência de plântulas

Foi realizado em bandeja plástica contendo como substrato, a mistura de areia e terra, na proporção de 2:1. O substrato foi umedecido até a capacidade de

70% de retenção. Após a semeadura, as bandejas foram mantidas em câmara de crescimento vegetal, previamente regulada à temperatura de 25°C, em regime alternado de luz e escuro (12 horas). As plântulas foram avaliadas diariamente após o primeiro dia de emergência, computando-se o número de plântulas emersas até a estabilização do estande aos 30 dias. O índice de velocidade de emergência foi determinado segundo fórmula proposta por Maguirre (1962). Foram utilizadas 4 repetições com 50 sementes por tratamento.

3.7 Teste de sanidade

A incubação das sementes foi realizada em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, contendo duas folhas de papel filtro autoclavado e umedecido em água destilada e autoclavada. Foram analisadas 400 sementes por tratamento distribuídas em 8 repetições com 25 sementes, sendo 200 com tegumento e 200 sem tegumento. Em seguida, as placas foram colocadas em BOD, a 20°C, sob regime alternado de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, durante 7 dias. Após o período de incubação, com auxílio de microscópio, foram realizadas a identificação e a quantificação dos fungos presentes nas sementes. Os valores foram expressos em porcentagem.

3.8 Avaliações moleculares

3.8.1 Preparo do material para análise enzimas

Nos períodos de 0, 3, 6 e 9 meses de armazenamento, foram retiradas duas amostras de 50 sementes sem tegumento de cada tratamento e armazenadas à temperatura de -86°C em recipiente escuro, para análise de enzimas por meio da técnica de eletroforese.

Para análise eletroforética de enzimas as sementes foram trituradas na presença de PVP e nitrogênio líquido em mortar sobre gelo e posteriormente armazenadas à temperatura de -86°C

3.8.2 Extração e análise de enzimas

Para a extração das enzimas, foi utilizado o tampão Tris HCL 0,2M pH 8,0 + (0,1% de β mercaptoetanol), na proporção de 250 μ L por 100mg de sementes. O material foi homogeneizado em vortex e mantido em overnight, em geladeira, seguido de centrifugação a 16.000 x g, por 60 minutos, a 4°C.

A corrida eletroforética foi em sistema de géis de poliacrilamida a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 15 μ L do sobrenadante da amostras e a corrida efetuada a 150 V por 4 horas.

Terminada a corrida, os géis foram revelados para as enzimas catalase (CAT), esterase (EST), glutamato oxalacetato transaminase (GOT), malato desidrogenase (MDH), fosfato glutamato (PGI) e superóxido dismutase (SOD), conforme Alfenas et al. (1991).

3.9 Procedimentos estatísticos

O delineamento estatístico experimental foi o inteiramente casualizado, num esquema fatorial (2 x 4 x 4) , sendo 2 estágios de maturação (sementes verdes e maduras), quatro tratamentos químicos (testemunha, Tecto+Captan, Thiram e Derosal) em 4 épocas de armazenamento (0, 3, 6, 9 meses).

Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes em cada teste, com exceção da determinação da sanidade, em que foram utilizadas 8 repetições com

25 sementes, determinação do grau de umidade e análises eletroforéticas, sendo 2 repetições de 50 sementes. Os fatores maturação e tratamento químico foram avaliados pelo teste de Tukey e o fator época avaliado pela análise de regressão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Grau de umidade das sementes

Os valores do grau de umidade das sementes, determinados aos 0, 3, 6 e 9 meses de armazenamento, estão apresentados na Tabela 1. O grau de umidade das sementes acondicionadas em embalagens plásticas impermeáveis foi monitorado durante o armazenamento e, independente do tratamento químico e da maturação da semente, pode-se verificar um aumento no conteúdo de água, aos 9 meses de armazenamento, em torno de 6%, em relação ao grau de umidade inicial. Von Pinho et al. (2005), ao armazenarem sementes de citrumelo ‘Swingle’ em embalagens plásticas impermeáveis, observaram que o grau de umidade se manteve inalterado a partir do terceiro mês, discordando dos resultados obtidos nesta pesquisa. Já em embalagens semipermeável e permeável, os autores observaram redução no teor de água.

Já Bonome (2006) observou um aumento nos valores do grau de umidade das sementes de seringueira durante o armazenamento com o uso de embalagem impermeável, sugerindo que esse aumento ocorreu em função do tipo de embalagem associado com o alto teor de água em que as sementes foram armazenadas. Esse último fator contribui para a elevação da atividade metabólica das sementes e, conseqüentemente, para o aumento de sua taxa respiratória, resultando em uma maior liberação de CO₂ e vapor de água no interior da embalagem. Outro fator que pode ter contribuído para o aumento no grau de umidade é a presença de patógenos.

Utilizando sacos de papel manteiga, Oliveira et al. (2003) armazenaram sementes de *Poncirus trifoliata* em câmara fria e seca, e observaram um ressecamento do tegumento. Nas embalagens permeáveis, há troca de vapor de água com o meio; assim, as sementes entram em equilíbrio higroscópico com o ambiente. Esse equilíbrio se deve à característica de higroscopicidade das sementes, que permite a absorção ou a perda de umidade para o ambiente, conforme as diferenças de potencial hídrico entre semente e o ar ambiente (Baskin, 1975).

TABELA 1 Resultados médios (%) do grau de umidade de sementes de citrumelo ‘Swingle’ avaliado durante o armazenamento em câmara fria e seca. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Época (mês)	Grau de umidade (%)	
	Estádio 1	Estádio 2
0	37,40	38,50
3	39,50	40,60
6	41,50	42,70
9	43,50	44,70

4.2 Sanidade de sementes

A incidência de fungos nas sementes de citrumelo ‘Swingle’ avaliadas no teste de sanidade, aos 0, 3, 6, e 9 meses, está apresentada nas Tabelas 2, 3, 4 e 5, respectivamente.

Verificou-se maior incidência de fungos do gênero *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Alternaria* e, em menor quantidade, *Rhizopus*,

Drecherela, *Trichoderma*, *Phoma* e *Nigrospora*, que não chegaram a 1% de incidência.

Pode-se observar que houve um aumento na incidência de patógenos durante o armazenamento e uma ligeira redução aos 9 meses. O mesmo foi verificado por Koller et al. (1993), em sementes de *Poncirus trifoliata* tratadas e armazenadas em sacos de polietileno, com grau de umidade de 35,5%. Na presente pesquisa, foi observado, durante o armazenamento, aumento na incidência de fungos, principalmente do gênero *Penicillium*, independente do tratamento químico.

Verificou-se um incremento na quantidade de patógenos, principalmente em sementes maduras sem tratamento químico e tratadas com Thiram.

De maneira geral, a retirada do tegumento, principalmente em sementes maduras, propiciou o aparecimento de fungos. O tegumento da semente funciona como uma barreira aos patógenos e, com sua retirada, a semente fica mais exposta aos ataques. Independente do tratamento químico e da maturação das sementes, a contaminação do fungo do gênero *Fusarium* aumentou em contraste com a redução de *Penicillium*. Esse comportamento evidencia um antagonismo dos mesmos.

Aos 3 meses de armazenamento, houve redução na incidência de *Aspergillus* e conseqüente aumento na quantidade dos outros fungos presentes nas sementes. Espécies de fungos do gênero *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus* podem associar-se às sementes e ter sua incidência aumentada, causando danos e deterioração das sementes com o armazenamento (Machado, 2000; Pádua & Vieira, 2001; Pádua et al., 2002; Pizzinato et al., 1999), principalmente se as condições do ambiente de armazenamento forem de alta umidade relativa e alta temperatura. Nesse sentido, Dhingra (1985) relatou que fungos de armazenamento são os principais responsáveis pela perda de viabilidade das sementes armazenadas com grau de umidade acima do valor crítico.

Verificou-se também, com o avanço do armazenamento, aumento na incidência de plântulas albinas. Há relatos de que o fungo *Alternaria tenuis* seja o agente causal mais comum dessa mutação, seguido do *Aspergillus flavus*, os quais produzem uma toxina inibidora da produção de clorofila (Laranjeira et al., 2005).

O tratamento químico com Thiram foi ineficiente para o controle dos patógenos, durante o armazenamento das sementes. Camacho et al. (1995) verificaram uma ação eficiente no controle de patógenos nas espécies de citros estudadas, quando o tratamento químico das sementes foi feito com Thiram e Benomyl. Essa diferença pode ter sido devido à dosagem usada, que foi de 3g/kg de semente, diferente da usada neste trabalho.

TABELA 2 Resultados médios (%) de fungos observados, antes do armazenamento, em sementes de citrumelo ‘Swingle’ com tegumento (CT) e sem tegumento (ST). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Estádio de maturação	Fungicida	<i>Aspergillus</i>		<i>Fusarium</i>		<i>Penicillium</i>		<i>Alternaria</i>	
		CT	ST	CT	ST	CT	ST	CT	ST
Estádio 1	Testemunha	3	0	3	3	3	1	1	2
	Captan + Tecto	0	0	0	0	0	0	0	0
	Derosal	0	0	0	5	5	0	0	0
	Thiram	2	4	2	2	2	0	0	0
Estádio 2	Testemunha	1	7	2	5	5	17	0	1
	Captan + Tecto	0	2	0	1	1	1	1	1
	Derosal	14	1	1	4	4	5	0	0
	Thiram	6	6	2	5	5	25	0	0

*Os dados não foram analisados estatisticamente

TABELA 3 Resultados médios (%) de fungos observados, aos 3 meses de armazenamento, em sementes de citrumelo ‘Swingle’ com tegumento (CT) e sem tegumento (ST). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Estádio de maturação	Fungicida	<i>Aspergillus</i>		<i>Fusarium</i>		<i>Penicillium</i>		<i>Alternaria</i>	
		CT	ST	CT	ST	CT	ST	CT	ST
Estádio 1	Testemunha	0	0	34	24	27	76	0	0
	Captan + Tecto	0	0	0	4	3	64	0	0
	Derosal	0	0	8	2	43	66	0	0
	Thiram	0	0	0	8	83	71	0	0
Estádio 2	Testemunha	0	0	63	42	4	48	1	1
	Captan + Tecto	0	0	11	9	21	94	0	0
	Derosal	0	0	12	12	95	71	0	0
	Thiram	0	0	11	9	99	82	0	0

*Os dados não foram analisados estatisticamente

TABELA 4 Resultados médios (%) de fungos observados, aos 6 meses de armazenamento, em sementes de citrumelo ‘Swingle’ com tegumento (CT) e sem tegumento (ST). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Estádio de maturação	Fungicida	<i>Aspergillus</i>		<i>Fusarium</i>		<i>Penicillium</i>		<i>Alternaria</i>	
		CT	ST	CT	ST	CT	ST	CT	ST
Estádio 1	Testemunha	5	24	23	18	3	28	0	0
	Captan + Tecto	0	0	0	5	20	19	26	4
	Derosal	3	21	3	13	11	11	0	0
	Thiram	3	47	1	1	3	36	0	0
Estádio 2	Testemunha	45	56	35	15	10	40	2	0
	Captan + Tecto	0	5	7	10	24	46	2	4
	Derosal	4	48	0	16	2	8	28	0
	Thiram	0	35	16	15	23	5	0	0

*Os dados não foram analisados estatisticamente

TABELA 5 Resultados médios (%) de fungos observados, aos 9 meses de armazenamento, em sementes de citrumelo ‘Swingle’ com tegumento (CT) e sem tegumento (ST). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Estádio de maturação	Fungicida	<i>Aspergillus</i>		<i>Fusarium</i>		<i>Penicillium</i>		<i>Alternaria</i>	
		CT	ST	CT	ST	CT	ST	CT	ST
Estádio 1	Testemunha	10	27	31	21	9	27	0	0
	Captan + Tecto	0	0	0	0	0	13	0	0
	Derosal	2	0	6	9	28	3	0	1
	Thiram	3	2	6	4	7	19	1	0
Estádio 2	Testemunha	8	14	22	6	2	15	0	0
	Captan + Tecto	0	0	2	4	10	58	0	0
	Derosal	1	17	7	28	0	8	0	0
	Thiram	3	6	10	22	1	31	0	0

*Os dados não foram analisados estatisticamente

4.3 Avaliação fisiológica e molecular

A germinação de sementes de citrumelo ‘Swingle’ ocorreu, em sua maioria, do quinto ao trigésimo dia após a semeadura, o que indica que a retirada dos tegumentos foi eficiente na promoção da germinação, que pode chegar a 60 dias. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira (2003), em sementes de *Poncirus trifoliata*. A germinação lenta pode ser atribuída às barreiras mecânicas determinadas pela presença de tais estruturas (Soares Filho et al., 1995). Ramos (1991) não observou efeito da retirada do tegumento na germinação de sementes de limão ‘Cravo’ e ‘Trifoliata’.

Além da barreira mecânica, a inibição da germinação pode ser provocada por agentes aleloquímicos. Ketring (1973) identificou em frutos de *Citrus limon*, o inibidor citral. Em testes realizados com sementes de alface, semeadas em substrato umedecido com extrato triturado provenientes da testa e do tegma de sementes de citrumelo ‘Swingle’, Carvalho (2001) observou reduções de 88%

nos valores de germinação das sementes de alface semeadas na presença de extrato de testa e de 100% quando foram semeadas em substrato contendo o extrato com tegma. Souza et al. (2006) também verificaram redução na porcentagem de germinação em sementes de alface semeadas em substrato contendo extrato de tegma de sementes de citrumelo ‘Swingle’ a 5%, e a ausência de pêlos absorventes nas radículas das mesmas.

Nas Tabelas 6 e 7 e nas Figuras 1, 2, 3 e 4 estão descritos os valores médios de germinação e índice de velocidade de emergência de sementes de citrumelo ‘Swingle’, verde e madura, respectivamente, durante o armazenamento. Pode-se observar que a germinação de sementes maduras foi superior, ao 0 mês, para sementes tratadas com Captan+Tecto, Derosal e Thiram e, aos 3 meses, para sementes tratadas com Derosal e Thiram, em relação às sementes verdes. Esse comportamento foi modificado aos 9 meses de armazenamento, para o tratamento químico de Captan+Tecto.

Nos valores de emergência aos 0 e 3 meses, foi observada diferença entre sementes verdes e maduras somente para o tratamento com Thiram

Até os 6 meses, sementes submetidas ao tratamento químico e colhidas no estágio 2 (maduro) apresentaram germinação superior em relação às colhidas no estágio 1 (verde).

Em relação ao observado no índice de velocidade de emergência, sementes verdes tratadas com a mistura de fungicidas Captan+Tecto tiveram valores superiores às sementes maduras aos seis meses, mantendo esse comportamento aos 9 meses de armazenamento.

TABELA 6 Resultados médios de germinação (%) de sementes de citrumelo ‘Swingle’ tratadas e não tratadas com fungicidas em dois estádios de maturação, verde (V) e maduro (M). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Fungicida	0 mês		3 meses		6 meses		9 meses	
	V	M	V	M	V	M	V	M
Testemunha	80 Ba	80 Ba	41 Ca	42 Ca	1 Cb	8 Ca	0 Ba	0 Ba
Captan+Tecto	88 Ab	95 Aa	72 Aa	73 Aa	48 Aa	46 Aa	41 Aa	10 Ab
Derosal	63 Cb	82 Ba	40 Cb	71 ABa	26 Ba	28 Ba	0 Ba	0 Ba
Thiram	71 Cb	86 Ba	52 Bb	63 Ba	1 Cb	26 Ba	0 Ba	0 Ba
CV (%)	9,90							

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, para cada período de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

TABELA 7 Índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de citrumelo ‘Swingle’ tratadas e não tratadas com fungicidas em dois estádios de maturação, verde (V) e maduro (M). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Fungicida	0 mês		3 meses		6 meses		9 meses	
	V	M	V	M	V	M	V	M
Testemunha	1,59Aa	1,76Aa	1,43Ba	1,38Ba	0,06Ba	0,02Ca	0,00Aa	0,15Aa
Captan+Tecto	1,70Aa	1,88Aa	2,07Aa	2,02Aa	1,74Aa	1,25 ^A b	1,34Ba	0,00Ab
Derosal	1,68Aa	1,98Aa	1,58Ba	1,79Aa	0,34Bb	0,74Ba	0,00Aa	0,00Aa
Thiram	1,58Ab	2,00Aa	1,30Bb	1,74Aa	0,17Ba	0,43Ba	0,00Aa	0,00Aa
CV (%)	21,70							

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, para cada período de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

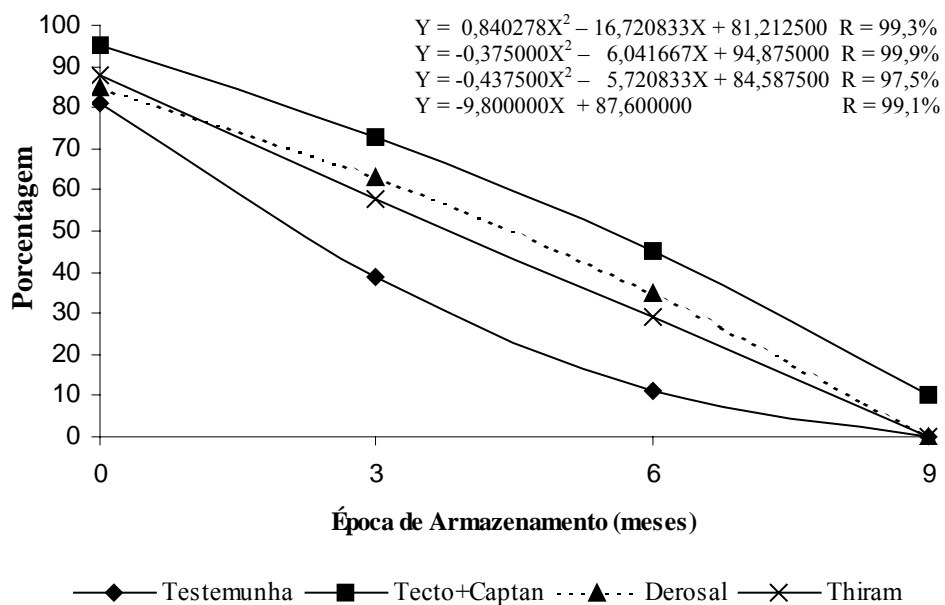


FIGURA 1 Percentagem de germinação de sementes maduras de citrumelo ‘Swingle’ com diferentes tratamentos químicos durante o armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2007.

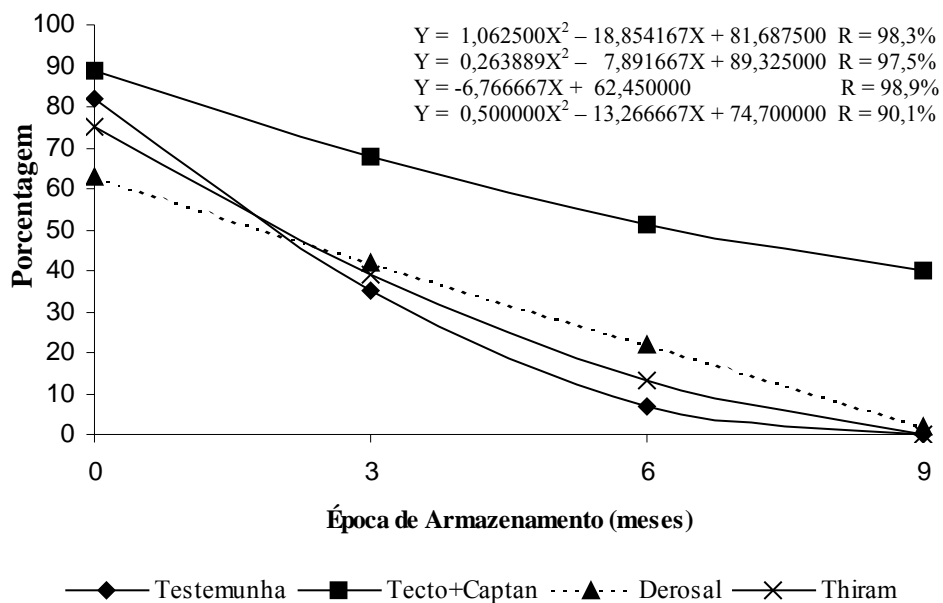


FIGURA 2 Percentagem de germinação de sementes verdes de citrumelo ‘Swingle’ com diferentes tratamentos químicos, durante o armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2007.

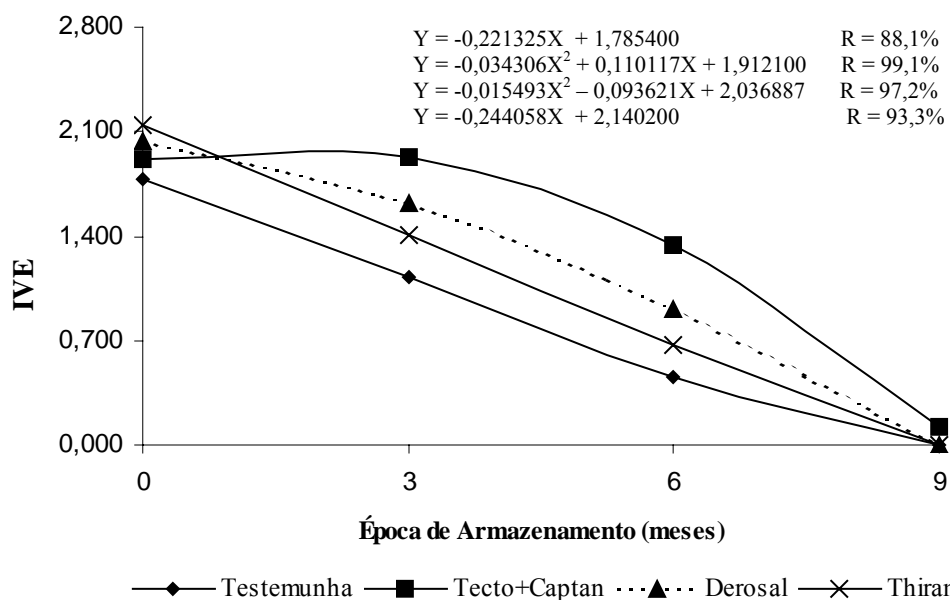


FIGURA 3 Índice de velocidade de emergência de sementes maduras de citrumelo ‘Swingle’ com diferentes tratamentos químicos durante o armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2007.

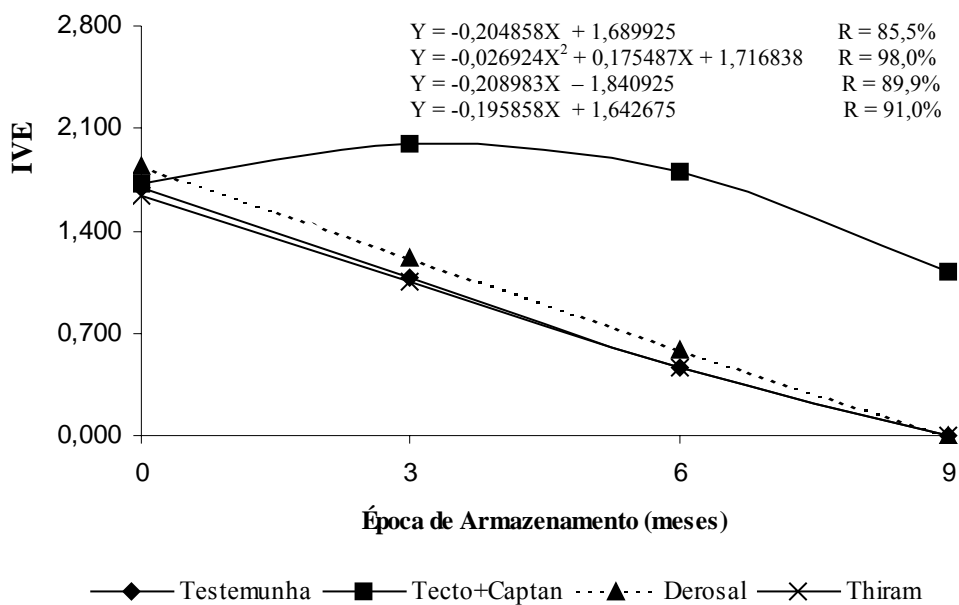


FIGURA 4 Índice de velocidade de emergência de sementes verdes de citrumelo ‘Swingle’ com diferentes tratamentos químicos, durante o armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Sementes maduras estão em um estágio de deterioração mais avançado, tendo uma maior perda na qualidade, principalmente aos 9 meses de armazenamento. Já em sementes verdes de citrumelo 'Swingle', houve uma maior conservação no final do armazenamento. Essa mesma tendência pode ser observada pelos valores de emergência.

Comparando-se os tratamentos químicos utilizados, em sementes tratadas com a mistura Captan+Tecto, foram observados maiores valores de germinação, embora esse tratamento não tenha erradicado totalmente os patógenos.

Aos 6 meses de armazenamento, houve grande incidência de patógenos nas sementes, reduzindo consideravelmente a germinação. Não houve diferença entre testemunha e sementes verdes de citrumelo 'Swingle' tratadas com Thiram. Essa redução drástica de 71% para 1% em sementes tratadas pode ter ocorrido devido a uma fitotoxidez do produto. Menten (1996) cita que o armazenamento pode acentuar o efeito fitotóxico do produto ou provocar uma redução na eficiência do fungicida. Sementes com superfície lisa, como é o caso de milho, soja e feijão, retêm menos produtos, dependendo da formulação usada. Por outro lado, superfícies rugosas, como a das sementes de algodão, arroz e trigo, possibilitam maior retenção dos produtos (Machado, 2000), característica essa observada também no tegumento de sementes de citros.

A redução da germinação das sementes, mesmo naquelas tratadas, pode ser devido, em parte, ao grau de umidade dessas sementes, tendo sido observada a formação de gotas de água na parte interna das embalagens. Em consequência, houve apodrecimento de 6%, em média, em sementes tratadas e de 10% naquelas sem tratamento, fato também observado por Koller et al. (1993).

Durante o armazenamento nas sementes tratadas com a mistura química, houve redução na incidência de fungos, e a redução no percentual de germinação dessas sementes foi superior em relação à testemunha e aos demais tratamentos.

Em sementes de *Poncirus trifoliata* tratadas com Captan houve manutenção da germinação durante 6 meses (Koller et al., 1993).

Aos nove meses de armazenamento, as sementes, independente do tratamento químico, possuíam um aspecto apodrecido e odor de etanol, e a massa de sementes bastante umedecida, principalmente em sementes maduras. Mesmo em condições de câmara fria e seca, essas amostras tiveram seu potencial de germinação nulo, com exceção daquelas tratadas com a mistura de fungicida. Em sementes verdes, houve redução do potencial de germinação, mesmo assim, foi superior ao das maduras, quando tratadas com a mistura de fungicidas. Esse fato é explicado, possivelmente, por dormência fisiológica ou imaturidade do embrião.

O armazenamento das sementes em câmara fria pode ter favorecido essa quebra de dormência ou a maturação do embrião. Mesmo sendo favorável esse armazenamento, as sementes de citrumelo são difíceis de serem mantidas sob tais condições artificiais.

Segundo Roberts (1973) as sementes de *Citrus* spp. são consideradas problemáticas, do ponto de vista de armazenamento, sendo necessário que elas sejam armazenadas com grau de umidade superior a 35%. Von Pinho et al. (2005) citaram que sementes de citrumelo ‘Swingle’, para uma conservação adequada, devem se armazenadas com grau de umidade em torno de 40%, em embalagem impermeável e em ambiente refrigerado. Esses resultados reforçam de Mungomery et al. (1966), os quais mostraram que a viabilidade de sementes de tangerina ‘Cleópatra’ (*Citrus reticulata* Blanco) pode ser mantida durante o armazenamento, desde que conservadas com grau de umidade acima de 40% e em temperaturas de 5° a 10°C.

Em relação aos perfis enzimáticos de sementes de citrumelo ‘Swingle’, foi observada, para a catalase, enzima do sistema de defesa antioxidante nas células, maior atividade em fases mais avançadas de deterioração (Figura 6A).

Nos tratamentos com fungicidas, foram observados maior atividade aos 6 e 9 meses de armazenamento, sendo mais evidente em sementes maduras, fato também verificado nos valores de germinação e IVE.

Em comparação com a testemunha, foi observada maior atividade dessa enzima em sementes tratadas com Thiram e Derosal, devido a uma provável fitotoxidez dos produtos. Isso pode ter ocorrido pela característica da superfície rugosas da semente que possibilita maior retenção do produto, além do fato de esse produto inibir a dehidrogenação de piruvato, podendo, em altas concentrações, atuar sobre outros mecanismos celulares (Machado, 2000).

Bonome (2006), observou, em sementes de seringueira, um ligeiro incremento dessa enzima até os 165 dias de armazenamento em temperatura ambiente e em sementes armazenadas em condições de câmara fria, a atividade da catalase manteve-se inalterada, independente do tratamento fungicida. Já Jeng & Sung (1994) e Bailly et al. (1996) verificaram redução na atividade da catalase com o envelhecimento de sementes de amendoim e girassol. O aumento da atividade dessa enzima, seguido do aumento da SOD (Figura 7F) não na mesma proporção, mostra claramente a ineficiência do sistema antioxidante das sementes recalcitrantes. Esse fato também foi relatado por Pukacka & Ratajczak (2005), em sementes de *Fagus Sylvatica*

Maior atividade da enzima esterase (Figura 6B) foi observada em sementes tratadas com Captan+Tecto, quando comparada à testemunha, sendo mais evidente em sementes maduras. Esse fato demonstra a maior peroxidação de lipídios, uma vez que esta enzima está envolvida em reações de hidrólise de ésteres estando diretamente ligada ao metabolismo de lipídios (Santos et al., 2004).

Fessel (2005) verificou uma diminuição da atividade da esterase com o aumento do período de envelhecimento das sementes de milho.

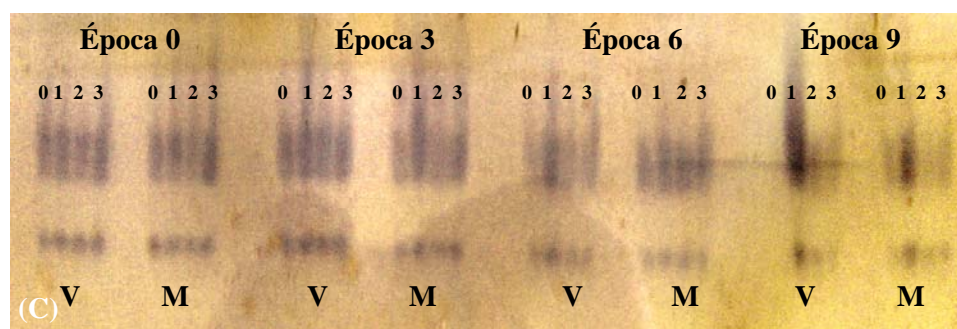
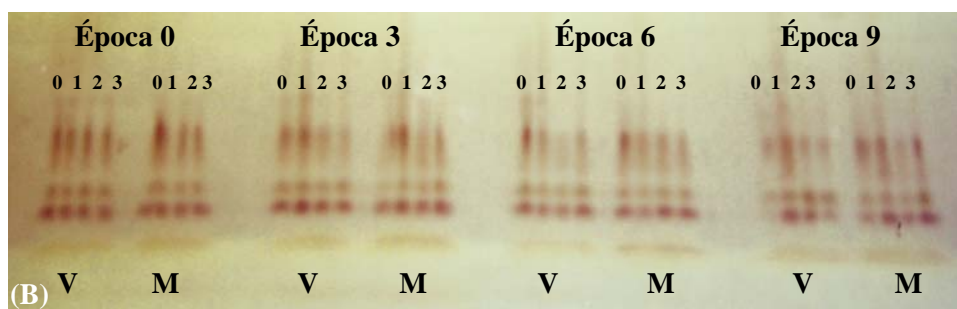


FIGURA 5 Perfis enzimáticos da catalase-CAT (A), esterase-EST (B), glutamato oxalacetato transaminase-GOT (C) de sementes de citrumelo ‘Swingle’ verde (V), madura (M) e tratadas, testemunha (0), Captan + Tecto (1), Derosal (2), Thiram (3). UFLA, Lavras, MG, 2007.

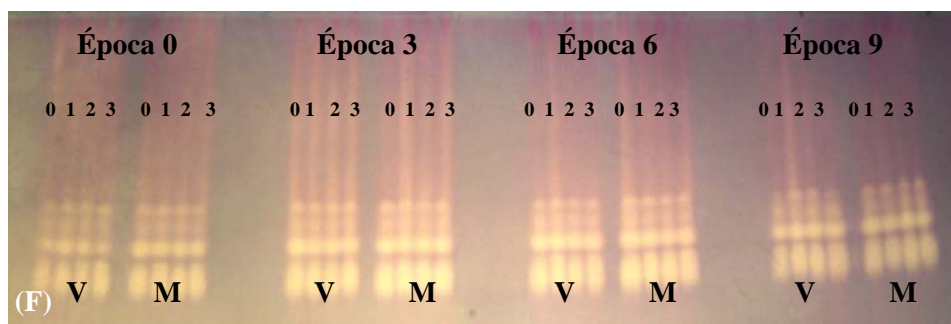
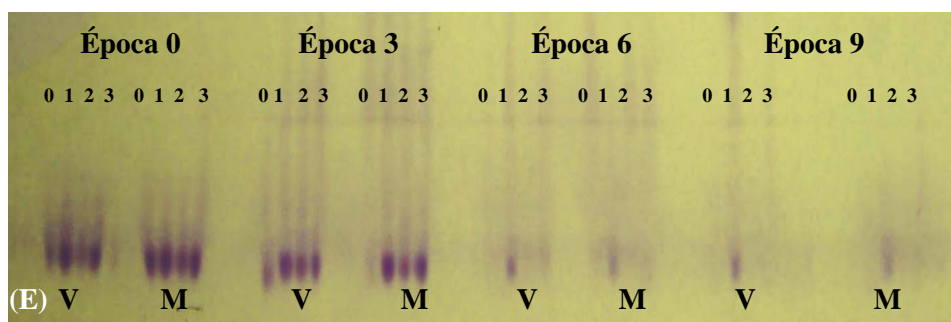
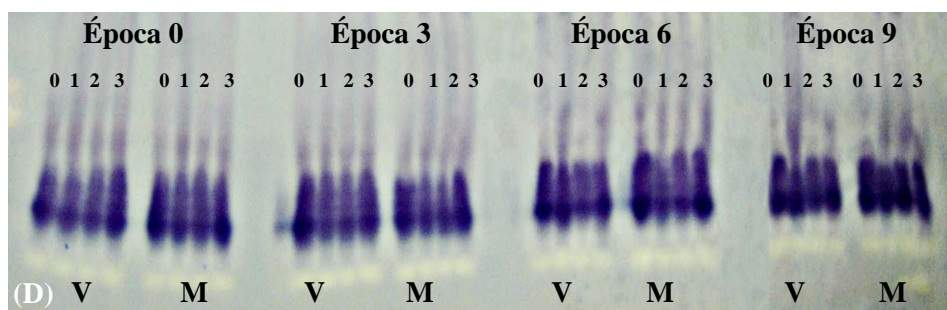


FIGURA 6 Perfis enzimáticos da malato desidrogenase-MDH (D), fosfato glutamato-PGI (E), superóxido dismutase-SOD (F) de sementes de citrumelo ‘Swingle’ verde (V), madura (M) e tratadas, testemunha (0), Captan + Tecto (1), Derosal (2), Thiram (3). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Resultado semelhante foi encontrado por Aung & McDonald (1995) em sementes de amendoim, tanto em sementes embebidas como não embebidas. Segundo esses autores, as esterases são o grupo de enzimas mais importantes na germinação de amendoim. Essas sementes são consideradas oleaginosas, com 48% de lipídios em sua composição (Marcos Filho, 2005). Em avaliação da composição química de sementes de citrumelo 'Swingle', verificou-se alto valor do teor de gordura em sementes maduras, 35% e em sementes verdes, 34% (Tabela 1A).

Alto teor de gordura das sementes favorece, neste grupo de enzimas hidrolíticas, a liberação de ácido graxo dos lipídios, os quais são usados na beta oxidação, como fonte de energia para os eventos germinativos. Muitos desses lipídios são constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração. Segundo Vieira (1996), a variação no perfil eletroforético dessa enzima parece estar mais relacionado à associação de microrganismos do que o processo deteriorativo em si.

Foi observada redução na proliferação de microrganismos em pesquisa realizada por Bonome (2006), em sementes de seringueira, com o tratamento das sementes. Esse autor verificou também uma redução da atividade dessa enzima em embrião de sementes de seringueira tratadas, com o avanço do armazenamento. Já em sementes armazenadas à temperatura ambiente e sem tratamento químico, constatou-se a presença de maior quantidade de microrganismos com o decorrer do armazenamento, justificando o aumento da atividade da esterase. Esses resultados corroboram com os resultados obtidos em sementes não tratadas e maduras de citrumelo.

Brandão Jr. et al. (1999) observaram diminuição da intensidade de um grupo de bandas de esterase e aumento de outras com o envelhecimento de sementes de milho, explicando que o aparecimento de novas bandas pode ser devido à ação de fungos de armazenamento. Chauhan et al. (1985) verificaram,

em sementes de soja e cevada, que os padrões de bandas de esterase não estavam uniformemente presentes nos diferentes tratamentos referentes aos tempos de envelhecimento acelerado e que o número de bandas aumentou com o tempo de envelhecimento, sendo algumas bandas específicas para determinado estágio de envelhecimento.

A glutamato oxalacetato transaminase (GOT) (Figura 6C) é uma enzima que tem um papel importante no processo de degradação e síntese de proteínas. Portanto, apresenta fundamental importância na germinação das sementes. Assim, é provável que o aumento do número de bandas esteja relacionado ao aumento da atividade metabólica.

Nas sementes que foram tratadas com Captan+Tecto, na medida que o período de armazenamento foi aumentado, houve uma diminuição na atividade da enzima GOT, mostrando a eficiência do tratamento. Esses resultados estão de acordo com os observados por Brandão Jr. (1996), que trabalhou com sementes de milho, enquanto Vieira (1996) não observou variação na atividade dessa enzima em sementes de algodão.

Bonome (2006) verificou uma menor intensidade de coloração e número de bandas no embrião de sementes de seringueira tratadas com fungicida, diferindo dos resultados encontrados nessa pesquisa. Já Silva et al. (2000), avaliando alterações dos padrões de isoenzimas em sementes de milho infectadas por fungo, verificaram uma redução na atividade da GOT, quando não foram tratadas.

Bonome (2006) verificou, que sementes de seringueira, aos 105 dias de armazenamento a temperatura ambiente e não tratadas houve um aumento da atividade com posterior queda. Essa redução foi atribuída em função do incremento da incidência de microrganismos nessas condições. Isso está de acordo com os dados obtidos na presente pesquisa, uma vez que a maior porcentagem de microrganismos foi evidente no decorrer do armazenamento.

Silva et al. (2000) relataram redução na intensidade de bandas da GOT em sementes de milho infectadas com *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme* e *Penicillium* spp.

A enzima malato desidrogenase (Figura 7D) teve sua atividade reduzida ao longo do armazenamento, exceto em sementes tratadas com Captan+Tecto, caracterizando uma desestruturação das membranas da mitocôndria e conseqüente deficiência na rota aeróbica, uma vez que essa enzima tem uma função importante no ciclo de Krebs para a produção de NADH.

Mesmo nas sementes armazenadas em embalagens plásticas a rota aeróbica continua acontecendo, mas com indícios da rota anaeróbica. Como essas sementes estavam muito contaminadas, espera-se um aumento na respiração dessas devido à utilização de reservas de carboidratos, ou seja, há aumento na atividade metabólica e muita energia faz-se necessária para suprir a demanda. Ao mesmo tempo, a biossíntese e o acúmulo de diversos compostos são iniciados, estando alguns desses diretamente ligados aos mecanismos de defesa. A MDH catalisa a conversão de malato a oxalacetato, e, além da importante função dentro do ciclo de Krebs, participa do movimento de malato através da membrana mitocondrial e da fixação de CO₂ nas plantas (Taiz & Zeiger, 1991). O tratamento Tecto+Captan foi eficiente, mantendo a atividade dessa enzima aos nove meses de armazenamento, o mesmo foi observado nos resultados dos testes para a avaliação da qualidade fisiológica.

A membrana mitocondrial é rica em lipídios insaturados, o que aumenta a superfície exposta à peroxidação, elevando a permeabilidade das membranas e afetando a atividade respiratória aeróbica, diminuindo a produção de ATP e a absorção de oxigênio (Ferguson et al., 1990; Wilson & McDonald, 1986).

A fosfoglicomutase (PGI) (Figura 7E) transforma a glicose 1 fosfato em glicose 6 fosfato na glicólise, reação que ocorre no citossol para a produção de energia. Esse açúcar é fosforilado, porém, se estiver na forma de amido ou

glicogênio, a incorporação do fosfato se dá por meio da enzima fosforilase (Ferri, 1985). Com o aumento do período de armazenamento, essa enzima teve sua atividade reduzida, pois os açúcares foram consumidos, sendo ela um excelente marcador na fase inicial do processo de deterioração, por atuar na glicólise, fase inicial do processo de respiração. A atividade foi mantida nas sementes tratadas com Captan+Tecto, justamente nas quais ocorreu menor incidência de patógenos, quando comparados aos demais tratamentos e maiores valores de germinação e vigor.

5 CONCLUSÕES

1. O tratamento de sementes de citrumelo ‘Swingle’ com Captan+Tecto é eficiente durante o armazenamento.
2. Sementes de frutos verdes e maduros têm deterioração crescente até os nove meses de armazenamento.
3. Sementes de frutos verdes têm deterioração menor que sementes maduras aos nove meses de armazenamento.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABECITRUS. Associação Brasileira dos exportadores de cítricos. Disponível em: <http://www.abecitrus.com.br/história_br.html. Acesso em: 24 abr. 2006.
- AGRIANUAL 1999 - Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP, 1999. 521p.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 3. ed. San Diego, CA: Academic press, 1998. 803 p.
- ALFENAS, A. C.; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: UFV, 1991. 242 p.
- AUNG, U. T.; MCDONALD, M. B. Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hipogaea* L.) seed deterioration. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, n. 1, p. 101-111, 1995.
- BAILLY, C.; BENAMAR, A.; COBINEAU, F.; CÔME, D. Changes in malondialdehyde contend and in superoxide dismutase, catalase, and glutathione reductase activities in sunflowewr seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, 97, n. 1, p. 104-110, May 1996.
- BARBEDO, C. J. NAKAGAWA, J. N.; BARBEDO, A. S. C.; ZANIN, A. C. W. Qualidade fisiológica de sementes de pepino cv. Pérola, em função da idade e do tempo de repouso pós-colheita dos frutos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 9, p. 30-32, set. 1997.
- BASKIN, C. C. Seed storage: biological aspects. In: SHORT COURSE FOR SEEDSMEN, 17., 1975, Mississipi. **Proceedings...** Mississipi: Mississipi State University, 1975. p. 77-80
- BASRA, A. S. **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York, 1995. 389 p.
- BERJAK, P. The role of micro-organisms in deterioration during storage of recalcitrant and intermediate seeds. In: QUEDRAOGO, A. S.; POULSEN, K.; STUBSGAAD, F. (Ed.) **Proceedings of a workshop on improved methods for**

handling and storage of intermediate recalcitrant tropical forest tree seeds.

Roma: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. p. 121-126.

BERJAK, P.; FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W. The basis of recalcitrant seed behaviour – cell biology of the homohydrous seed conditions. In: TAYLORSON, R. B. (Ed.). **Recent advances in the development and germination of seeds.** New York: Plenum Press, 1989. p. 89-108.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. Progress in the understanding and manipulation of desiccation sensitive (recalcitrant) seeds. In: ELLIS, R. H.; BLACK, M.; MURDOCH, A. J.; HUNG, T. D. (Ed). **Basic and applied aspects of seed biology.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishing, 1997. p. 689-703.

BILIA, D. A. C.; FILHO, J. M.; NOVENBRE, A. D. L. Desiccation tolerance and storability of *Inga uruguensis* seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1. p. 77-89, 1999.

BONOME, L. T. S. **Alterações fisiológicas, bioquímicas e moleculares em sementes de seringueira (*Hevea* sp.) durante o armazenamento.** 2006. 136 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BONOME, L. T. S.; VON PINHO, E. V. de R. Efeito do grau de umidade das sementes, embalagens e ambiente de armazenamento na conservação de sementes de citros. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA, 12., 1999, Lavras. **Anais...** Lavras: CICESAL, 1999. p. 42.

BRANDÃO JUNIOR, D. S. **Eletroforese de proteína e isoenzima na avaliação da qualidade de sementes de milho.** 1996. 110 p. (Dissertação – Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BRANDÃO JUNIOR, D. S.; CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C. Variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas relativas à deterioração de sementes de milho envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 114-121, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes.** Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

CAMACHO, O.; VALLE, V. N. DEL.; HERRERA, I. L.; CAMOS, R. A.; RIOSS, C. A.; ACOSTA, S. M.; DITA, R. M. A. Conservacion de semillas de patrones cítricos. **Centro Agrícola**, v. 22, n. 2, p. 5-9, 1995.

CARVALHO, J. A. **Conservação de sementes de citros e testes rápidos para avaliação da qualidade fisiológica**. 2001. 140 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CHAPOT, H. The citrus plant. In: CIBA-GEIGY Agrochemicals technical monograph. Citrus. 1975. n. 4, 88 p.

CHAUHAN, K. P. S.; GOPINATHAN, M. C.; BASU, C. R. Electrophoretic variation of protein and enzymes in relation to seed quality. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 13, n. 3, p. 629-641, 1985.

CHILEMBWE, E. H. C.; CASTLE, W. S.; CANTLIFFE, D. J. Grading, hydrating, and osmotically priming seed of four citrus rootstocks to increase germination rate and seedling uniformity. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 117, n. 3, p. 368-372, May 1992.

CÍCERO, S. M. Produção, coleta, transporte e armazenamento de sementes de seringueira. In: SIMPÓSIO SOBRE A CULTURA DA SERINGUEIRA NO ESTADO DE SÃO PAULO, 1., 1986, Piracicaba. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1986. p. 133-138

COHEN, A. Studies on the viability of citrus seeds and certain properties of their coats. **Israel Journal of Botany**, Jerusalem, v. 7, p. 69-80, 1956.

CONN, E. C.; STUMPF, P. K. **Introdução a bioquímica**. São Paulo: Edgard Bliicher, 1980. 451 p.

COOLBEAR, P. Mechanisms of seed deterioration. In: BASRA, A. S. (Ed.). **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York: Food Products Press, 1995. p. 223-275.

DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerate aging techniques for predicting the relative storability of seeds lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 2, p. 427-452, 1973.

DESAI, B. B.; KOTECHA, P. M.; SALUNKHE, D. K. **Seeds Handbook**. New York, 1997. 627 p.

DHINGRA, O. D. Prejuízos causados por microrganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 139-145, 1985.

EATON, J. W. Catalases and peroxidases and glutathione and hydrogen peroxide: mysteries of the bestiary. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, St. Paul, v. 118, n. 1, p. 3-4, July 1991.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Recalcitrance – a current assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 16, n. 1, p. 155-166, 1988

FERGUSON, J. M.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. Changes during early soybean seed and axes deterioration: II. Lipids. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 1, p. 179-182, Jan./Feb. 1990.

FERRI, M. G. (Coord.). **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EPU, 1985. 362 p.

FESSEL, S. A. **Testes fisiológicos e eletroforese de enzimas para monitoramento da deterioração em sementes de milho**. 2005. 139 p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

FIGUEIREDO, S. F. L. Conservação da viabilidade da semente de cacau. IV. Efeito de fungicidas e peletização. **Theobroma**, Ilhéus, v. 16, n. 4, p. 173-188, out./dez. 1986.

FUCIK, J. E. Sources of variability in sour orange seed germination and seedling growth. **Proceedings International of the Society of Citriculture**, Orlando, v. 1, p. 141-143, 1978.

GARCIA, A.; VIEIRA, R. D. Germinação, armazenamento e tratamento fungicida de sementes de seringueira. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 128-133, 1994.

GOULART, A. C. P. **Influência do grafite adicionado às sementes de soja e algodão na eficiência do tratamento com fungicidas**. Dourados: Embrapa Agropecuária do Oeste, 2000. 27 p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Boletim de Pesquisa, 8).

GROSSER, J. W.; GMITTER JUNIOR, F. G. Protoplast fusion and citrus improvement. **Plant Breeding Reviews**, New York, v. 8, p. 339-374, 1990.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Protection against oxidants in biological systems: the superoxide theory of oxygen toxicity. In: HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. (Ed.). **Free radical in biology and medicine**. Oxford: Clarendon Press, 1989. p. 86-123

HALMER, P.; BEWLEY, D. A physiological perspective on seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 12, n. 2, p. 561-575, 1984.

HARRINGTON, J. F. Effect of fruit maturity and harvesting methods on germination of muskmelon seed. **Proceeding of the American Society of Horticultural Science**. Alexandria, n. 73, p. 422-430, June 1959.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behavior**. In: ENGELS, J. M. M; TOLI, J. Rome: IPGRI, 1996. 62 p. (IPGRIU Technical Bulletin n. 1).

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. Interspecific variation in seed storage behavior within two genera – *Coffea* and *Citrus*. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, n. 1, p. 165-181, 1995

IBRAHIM, A. E.; ROBERTS, E. H. Viability of lettuce seeds. I. Survival in hermetic storage. **Journal of Experimental Botany**, Cambridge, v. 34, n. 142, p. 620-630, May 1983.

JENG, T. L.; SUNG, J. M. Hydration effect on lipid peroxidation and peroxide scavenging enzymes activity of artificially age peanut seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 22, n. 3, p. 531-539, 1994.

JUNIOR, J. P. Porta-enxertos. Cap 6. In: JUNIOR, D. M.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; JUNIOR, J. P. **CITROS**. Campinas: IAC/FUNDAG, 2005. p. 125-145

KETRING, D. L. Germination inhibitors. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 2, p. 305-324, 1973.

KING, M. W.; ROBERTS, E. H. **The storage of recalcitrant seed: achievements and possible approaches**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, Rome, 1979. 96 p.

KOLLER, O. L.; STUKER, H.; VERONA, L. A. F.; SOPRANO, E. Efeito da umidade da semente, da temperatura de estocagem e da duração de estocagem sobre a germinação de *Poncirus trifoliata* e de outros porta-enxertos de citros.

Revista Brasileira de Fruticultura, Cruz das Almas, v. 15, n. 1, p. 27-33, 1993.

LARANJEIRA, F. F.; AMORIM, L.; FILHO, A. B.; AGUILAR-VILDOSO, C. I.; FILHO, H. D. C. Fungos, procariotos e doenças abióticas. In: JUNIOR, D. M.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; JUNIOR, J. P. **CITROS**. Campinas: IAC/FUNDAG, 2005. Cap 18, p. 508-566

MACEDO, E. de C.; GROTH, D.; SOAVE, J. Influência da embalagem e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 454-461, 1998.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138 p.

MAGUIRRE, J. D. Speed of germination – aid seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

MANTOVANI, E. C.; SILVA, R. F.; CASALI, V. W. D. Desenvolvimento e maturação fisiológica de sementes de pimentão (*Capsicum annuum*, L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 27, n. 152, p. 356-368, 1980.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessments. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

MENTEN, J. O. M. Importância do tratamento de sementes. In: MENTEN, J. O. M. (Ed). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/ FEALQ, 1991. 321 p.

MENTEN, J. O. M. Tratamento químico de sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 4., 1996, Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1996. p. 104.

MONSELISE, S. P. Citrus seed biology. In: INTERNATIONAL HORTICULTURE CONGRESS, 16., 1962. **Proceedings...** . 1962. v. 5, p. 559-565.

MUNGOMERY, W. V.; AGNEW, G. W. J.; PRODONOFF, E. T. Maintenance of citrus seed viability. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, Brisbane, v. 23, p. 103-120, 1966.

NEVES, M. F.; LOPES, F. F. (Coord.). **Estratégias para a laranja no Brasil**. São Paulo: Atlas, 2005. 225 p.

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; RADMANN, E. B. Procedimentos para o armazenamento de sementes de *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 461-463, dez. 2003.

PÁDUA, G. P.; VIEIRA, R. D. Deterioração de sementes de algodão durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 255-262, 2001.

PÁDUA, G. P.; VIEIRA, R. D.; BARBOSA, J. C. Desempenho de sementes de algodão tratadas quimicamente e armazenadas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 212-219, 2002.

PASQUAL, M.; PINTO, J. E. B. P. Cultura de embriões. **Notícias da Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas**, Brasília, v. 9, p. 2-12, ago. 1998.

PESCADOR, R.; BIASI, L. A.; KOLLER, O. C. Avaliação da germinação de sementes de duas espécies cítricas em diversos estádios de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 14, n. 2, p. 209-213, 1992.

PIZZINATTO, M. A.; RAZERA, L. F.; CIA, E.; AMBROSANO, G. M. B. Qualidade de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) do ensaio regional de variedade paulistas. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 139-144, abr./jun. 1999.

POMPEU JÚNIOR, J. Rootstocks and scions in the citriculture of the São Paulo state. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF CITRUS NURSERYMEN, 6., Ribeirão Preto, 2001. **Proceedings...** Ribeirão Preto: International Society of Citrus Nurserymen, 2001. p. 75-82.

POMPEU JÚNIOR, J.; AMARO, A. A. **Citricultura brasileira**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargil, 1991. v. 1, p. 265-280.

PROBERT, R.; SMITH, R. Seed viability and the prediction of longevity. In: SEED CONSERVATION TRAINING COURSE, 1996, Jaboticabal. [Course], Jaboticabal: UNESP, 1996. não paginado.

PUKACKA, S.; RATAJCZAC, R. Production and scavenging of reactive oxygen species in *Fagus sylvatica* seeds during storage at varied temperature and humidity. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 162, n. 8, p. 873-885, Aug. 2005.

QUEIROZ, R. B. V.; BLUMER, S. Morfologia dos citrus. In: JUNIOR, D. M.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; JUNIOR, J. P. **Citros**. Campinas: IAC/FUNDAG, 2005. Cap 5, p. 105-123

RAMOS, J. D.; SERGIO, A. C.; PASQUAL, M. Efeito da extração do tegumento na expressão poliembriônica de sementes de dois porta-enxertos cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 1, p. 161-166, out. 1991.

RENA, A. B.; SIQUEIRA, D. L.; MACHADO, E. C. Fisiologia dos Citrus. In: JUNIOR, D. M.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; JUNIOR, J. P. **Citros**. Campinas: IAC/FUNDAG, 2005. Cap 7, p. 147-195

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seeds Science and Tecnology**, Zurich, v. 1, n. 3, p. 499-514, 1973.

RUANO, O.; PIRES, J. R.; ALMEIDA, W. P. de; YAMAOKA, R. S.; COSTA, A.; MARUR, C. J.; TURKIEWICZ; SANTOS, W. J. dos. **Prevenção do tombamento do algodoeiro através do tratamento de sementes com fungicidas**. Londrina: IAPAR, 1989. 6 p. (Informe de Pesquisa IAPAR, v. 13, n. 88).

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILELA, F. A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 110-119, 2004.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILELA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 104-114, 2005.

SCANDALIOS, J. G. Isozymes in development and differentiation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 25, n. 1, p. 225-258, 1974

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutase. **Plant Physiology**, Rockville, v. 101, n. 1, p. 7-12, Jan. 1993.

SHATTERS, R. G.; ABDELGHANY, A.; ELBAGOURY, O.; WEST, S. H. Soybean seed deterioration and response to osmotic priming: changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germination seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 1, p. 33-41, Mar. 1994.

SILVA, E. A. A.; VON PINHO, E. V. R.; VIEIRA, M. G. G. C.; CARVALHO, M. L.; MACHADO, J. C. Alterações dos padrões de isoenzimas em sementes de milho infectadas por fungos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 9, p. 1725-1732, set. 2000.

SOARES FILHO, W. S.; LEE, M.; CUNHA SOBRINHO, A. P. da. Influence of pollinators on polyembryony in *Citrus*. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 403, p. 256-265, 1995.

SOARES FILHO, W. S.; MOREIRA, C. S. M.; CUNHA, M. A. P.; SOBRINHO, A. P. C.; PASSOS, O. S. Poliembrião e frequência de híbridos em *Citrus* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 4, p. 857-864, abr. 2000.

SOARES FILHO, W. S.; PELACANI, C. R.; SOUZA, A. S.; SOBRINHO, A. P. C.; ARAUJO, E. F. Influência dos tegumentos externo e interno na germinação de sementes de citros: implicações na sobrevivência de “seedlings” híbridos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 17, n. 1, p. 91-101, nov. 1995.

SOUZA, L. A.; SILVA, T. T. A.; VON PINHO, E. V.; RIBEIRO, M. N. O. Germinação de sementes de alface na presença de extratos do tegumento de sementes de citrumeiro ‘Swingle’. In: CONGRESSO DOS PÓS GRADUANDOS DA UFLA, 15, 2006, Lavras – MG. **Anais...** Lavras: UFLA, 2006. 1CD-ROM.

SPIEGEL-ROY, P. GOLDSCHMIDT, E. E. **Biology of citrus**. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. 230 p.

SWINGLE, W. T.; REECE, P. C. The botany of citrus and its wild relatives. In: REUTHER, W.; WEBBER, H. J.; BATCHELOR (Ed.). **The citrus industry**. Berkeley: University of California Press, 1967. p. 190-430.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Manual das sementes – tecnologia da produção**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. 224 p.

VIEIRA, M. G. G. C. **Utilização de marcadores moleculares no monitoramento da qualidade sanitária e nível de deterioração de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**. 1996. 114 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VIEIRA, M. G. G. C. **Técnicas moleculares em sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 86 p.

VON PINHO, E. V. R.; SILVA, T. T. A.; CARVALHO, J. A. ; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M. Conservação de sementes de citrumelo Swingle **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 30, n. 2, p. 178-185, 2005.

WILSON, D. O.; MCDONALD, M. B. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 14, n. 2, p. 269-300, 1986.

ANEXOS

	Página
TABELA 1A Composição química de sementes de citrumelo ‘Swingle’ em dois estádios de maturação.....	55
TABELA 2A Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação fisiológica de sementes de citrumelo ‘Swingle’.UFLA, Lavras – MG, 2007.....	55

TABELA 1A. Composição química de sementes de citrumelo ‘Swingle’ em dois estádios de maturação. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Composição Química Base seca	Semente verde	Semente madura
Matéria seca	58,56%	58,73%
Proteína	16,45%	14,70%
Gordura	33,95%	35,02%
Resíduo mineral	2,68%	2,38%
Fibras brutas	6,82%	5,85%
Carboidratos	40,10%	42,05%
Calorias	531,75 kcal/100g	542,18 kcal/100g
Cálcio	180,00 mg/100g	180,00 mg/100g
Potássio	950,00 mg/100g	920,00 mg/100g
Magnésio	170,00 mg/100g	180,00 mg/100g

TABELA 2A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos na avaliação fisiológica de sementes de citrumelo ‘swingle’. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio	
		Germinação	Emergência
Maturação	1	940.6953*	0.0781 ^{NS}
Fungicida	3	4658.3411*	3.1237*
Época	3	35639.6328*	20.2235*
Maturação x Fungicida	3	691.1536*	0.6156*
Maturação x Época	3	632.7786*	0.3847*
Fungicida x Época	9	385.5495*	0.5319*
Maturação x Fungicida x Época	9	202.3759*	0.1028*
Erro	16	16.8776	0.0516
CV (%)		9,90	21,7

* Significativo a 5% de probabilidade